超大表面积自驱动微流控芯片的设计与制备

陈亮[1]，高姗[1#]，毛海央[2]，王云翔[2]，冀斌[1]，金志颖[1]，康琳[1]，杨浩[1]，王景林[1]
1 军事医学研究院微生物流行病研究所，北京 100071
2 中国科学院微电子研究所 智能感知研发中心，北京 100029

摘要 目的：利用新型纳米森林材料，构建一种操作简单、检测快速、灵敏度高的用于现场检测的自驱动微流控芯片。方法：利用 MEMS 加工技术制备出具有优良光学性能和大表面积的石英纳米森林结构微流道，对该纳米森林结构的高度、宽度/横向尺寸、密度、表面积、光学性能、毛细驱动效果、荧光增敏效果做出评价,利用双抗体夹心的方法进行蓖麻毒素的检测。结果：纳米纤维锥底直径约 200~300nm，高度约 1.0um，纳米森林的密度约为 10 个/μm²，估测表面积比底面积达 5:1 以上。其在波长为 680nm 处的透光率达 89.5%，驱动流速约 5mm/s，与平面结构相比，其饱和荧光显色成倍提高。蓖麻毒素的检测限低于 10 pg/ml，在 10~6250pg/ml 范围内具有较好线性关系。结论：基于纳米森林结构，成功构建了一种具有超大表面积和高灵敏度的毛细自驱动微流控芯片。

关键词 纳米森林 微流控芯片 现场检测

Design and fabrication of self-driven microfluidic chip with ultra-large surface area

CHEN Liang[1†], GAO Shan[1†],MAO Hai-yang[2],WANG Yun-xiang[2],JI Bin[1], JIN Zhi-ying[1],YANG Hao[1]*, WANG Jing-lin[1]*
1 State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing 100071, P. R. China
2 Institute of Microelectronics of Chinese Academy of Sciences，Beijing 100029，China

Abstract **Objective:** A new material with ultra-large surface area named nano-forest is prepared by Micro-Electro-Mechanical System(MEMS) processing technology. Based on this material, a new microfluidic chip for point-of-care test with simple operation, rapid detection and high sensitivity is created. **Methods:** The fabrication of nano-forests in micro-channel on quartz substrate mainly includes: cleaning and drying of quartz substrate; spinning polyimide(PI) coating; re-spinning phenolic resin photoresist on PI coating; photolithography to expose the channel; treating the PI layer with oxygen plasma and argon plasma to synthesize nano-fiber forests structure; nano-fiber-quartz nanoforests are realized by using nano-fiber forests as nanomasks in anisotropic etching of quartz by using reactive ion etching (RIE); the micro-channel with nano-forests structure inside is achieved after removing upper nanofiber forests structure and phenolic resin photoresist coating.The height, width, density and specific surface area of nano-forest are studied and analyzed by scanning electron microscope(SEM). Optical properties

作者：陈亮，男，硕士研究生，研究方向：细菌与毒素的检测，Tel：010-66948643，chen505x@foxmail.com；
#共同第一作者，高姗，女，助理研究员，研究方向：细菌与毒素的检测，Tel：010-66948643，gaoshan845@163.com
*通讯作者：王景林，Tel：010-66948643，E-mail：wjlwjl0801@sina.com；杨浩，Tel：010-66948643，E-mail：tohaoyang@hotmail.com
本研究受 AWS15J006、2017YFC1200900 项目资助
†Equal contributors
*Corresponding Authors
WANG Jinglin YANG Hao
E-mail: tohaoyang@hotmail.com

are tested by ultraviolet-visible spectrophotometer. The driving force is characterized by the flow rate of PBS solution.The sensitization effect is evaluated by saturated fluorescence test through antibody and AbFluor 680 dye-labeled secondary antibody. The sample pad, bond pad, micro-channel with nano-forests structure, nitrocellulose membrane and absorbent material are assembled on PMMA substrate in sequence, which is the microfluidic chip. The chip based on the sandwich format with a polyclonal antibody and a AbFluor 680 dye-labeled secondary antibody is used to detect ricin toxin(RT). **Results:** The scanning electron microscope shows that the nanofiber forests structure is formed on quartz substrate after oxygen plasma and argon plasma bombardment. The single nanofiber is upright on the substrate with a diameter of about 50-100 nm, a height of 1.8 um and a density of about 20/μm2. The quartz nano-forests structure can be obtained after RIE with nano-fibre forests structure as mask and resist removal. The single structure is shaped like a cone. The diameter of the cone bottom is about 100-200 nm, the height is about 1.0 um, the density is about 10/μm2, and the surface area to bottom area is more than 5:1. Self-driven test provides information of the flow rate of PBS is to be about 5 mm/s in the micro-channel on the basis of nano-forests structure. The transmittance of the channel is 89.5%at 680 nm wavelength. It shows that the channel has good transmittance, which makes the loss of excitation light or emission light much less, and is conducive to the sensor capturing more signals. With same surface modification, the planar quartz structure has shortcomings of short lasting effect time and low saturation fluorescence intensity. To the contrary, nano-forests structure with ultra-large surface area has a good sensitization effect in the test. RT can be detected sensitively based on the significantly fluorescent intensity.The linear range of detection is from 10 pg/mL to 6250 pg/mL and the limit of detection (LOD) is lower than 10 pg/mL. **Conclusion:** The nano-forests structure with good optical properties reduces the requirements of sensor and also makes the choice of fluorescent dyes wider.The three-dimensional structure of the nano-forest has an ultra-large surface area, which increases the amount of antibody compared to the planar structure, and thus improves the sensitivity of detection greatly. Compared with the immunochromatographic test strip, the microfluidic chip has an advantage of high sensitivity, thus the quantitative analysis can be realized within a certain range. Most microfluidic chips require complex equipments to provide driving force, which will make them costly and bulky. Driven by the capillary force, the chip with nano-forests structure inside makes the detection simple and fast. Combined with the miniaturized detection terminal, the platform can be miniaturized, portable, and automated, achieving the goal of simple, fast and efficient analysis. These characteristics make the chip an ideal candidate for the development of rapid detection methods.

Key Words Nanoforest Microfluidic chip Point-of-care test

免疫层析试纸条是上世纪 80 年代发展起来的一种简便易用的快速检测技术，该技术将胶体金、胶体硒、着色乳胶微球等标记抗体或抗原后作为检测探针储存于玻纤膜内。当液态检测样本在毛细作用驱动下依次通过样品垫、储存有检测探针的玻纤膜、固化有待检分子对应配体的硝酸纤维素膜、吸水垫时在硝酸纤维素膜上捕获并呈色相应的靶分子。经过多年的发展，该技术制备简单、成本极低、操作简便，在现场快速测领域得到了广泛的应用[1]。但是，免疫层析试纸条是基于硝酸纤维素膜的检测方案，只能在不透明的硝酸纤维素膜表面呈色，膜内所捕获的检测探针无法呈色，使得免疫层析试纸条损失了大部分检测信号，因而检测灵敏度较低，且无法对待检分子进行更为精确的定量分析。

为解决传统免疫层析试纸条的不足，微流控芯片技术在现场快速检测领域的应用越发受

到重视。微流控芯片是由微机电系统（Micro Electrom Mchanical Systems，MEMS）加工技术刻蚀微米级的微通道网络构成，以可控流体贯穿整个系统，用以实现常规化学或生物实验室的各种功能，以达到微型化、便携化、自动化、集成化、低成本、高通量和简单、快速、高效的分析目的[2, 3]。与传统的检测方法相比，微流控芯片的优点在于对样品和试剂的数量和流速的精确控制，使得分析物的分离和检测具有高精度和高灵敏度[4]。微流控芯片还可缩短反应时间，提高分析效率，节约试剂和样本，以及易于集成化、便携化，操作简便，更易实现自动化[5]。常规微流控芯片检测系统虽然芯片本身体积小携带方便，但往往需要复杂的辅助系统，使得整个检测过程步骤繁琐、应用成本昂贵，极大的限制了其在现场快速检测领域的应用[6]。

针对以上问题，本研究利用 MEMS 技术中成熟的工艺，以石英基底纳米森林结构为流道，结合光学检测方法，设计制备了具有超大表面积和高灵敏度的毛细自驱动微流控芯片。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

石英玻璃（上海高施光电有限公司）、聚酰亚胺树脂（北京波米科技有限公司）、N-甲基吡咯烷酮（江阴江化微电子材料股份有限公司）、JAX3038 正胶显影液（江阴市化学试剂厂）、热板（PHP-8，苏州美图半导体技术有限公司）、匀胶机（RC-150，苏州美图半导体技术有限公司）、March 去胶机（A Nordson Company）、反应离子刻蚀机（Tegal Plasma 903e），六英寸双面对准光刻机（SUSS MA6/BA6），Quanta400FEG 热场发射环境扫描电子显微镜，紫外可见光分光光度计（Hitachi U-4100）。Odyssey 红外荧光成像系统（美国 licor 公司）、Biodot AD1510 生物芯片点样系统，3-氨基丙基-三甲氧基硅氧烷（APTES）（美国 Sigma 公司）、50%戊二醛（国药）、蓖麻毒素（自制）、蓖麻毒素多克隆抗体（自制）、山羊抗兔 IgG（北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司）、LinKine AbFluor 680 Labeling Kit（美国 Abbkine 公司）。

1.2 方法

1.2.1 微流控芯片的设计

微流控芯片主要由样品垫、结合物垫、纳米森林基片、吸水材料和 PMMA 底板组成，如图 1 所示。样品垫和结合物垫均为玻璃纤维膜，纳米森林基片为制备的内部为纳米森林结构的微流道，检测区和质控区都在微流道内部。

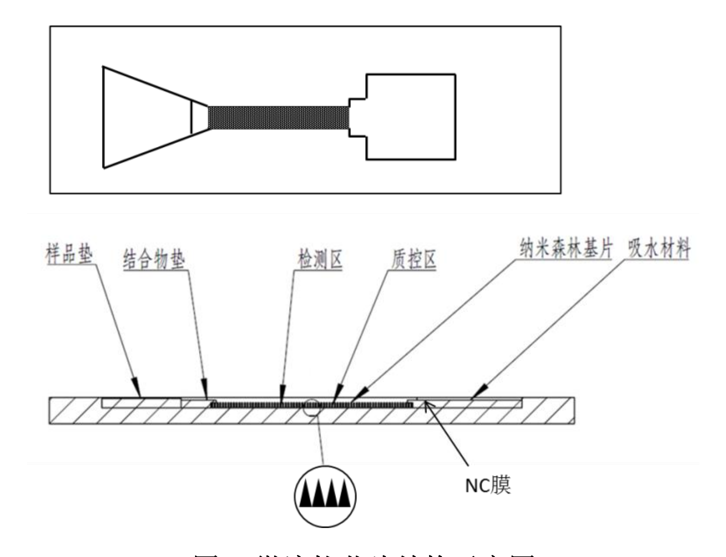


图 1 微流控芯片结构示意图

Fig.1 Schematic of the microfluidic chip

1.2.2 纳米森林基片的制备方法

在石英基底上制备纳米森林结构微流道，其工艺流程如图 2 所示。具体工序包括：石英衬底的清洗和干燥；石英衬底的脱水烘焙和六甲基二硅胺（HMDS）气相成底膜；在石英衬底上旋涂 5um 厚聚酰亚胺（PI）涂层；在聚酰亚胺（PI）涂层上再次旋涂 6um 厚酚醛树脂光刻胶；光刻图形化，暴露流道区域；采用氧等离子体和氩等离子体分别对图形化后的 PI 层进行轰击形成纳米纤维森林结构，氧等离子体和氩等离子体的流量分别为 200sccm 和 150sccm，作用时间分别为 20min 和 40min，整个作用过程中保持腔体压强和功率不变，均为 400W 和 80mTorr；以纳米森林结构为掩模，采用反应离子刻蚀（RIE）的方法进行石英的各向异性刻蚀，刻蚀工艺采用的条件与参数为 SF6/CHF3/HE : 5.5/32/150sccm，200W，1850 mTorr，刻蚀时间 15min，形成纳米纤维-石英纳米森林；去除残留的上层纳米纤维森林结构和光刻胶涂层，得到内部为纳米森林结构的微流道[7-9]。

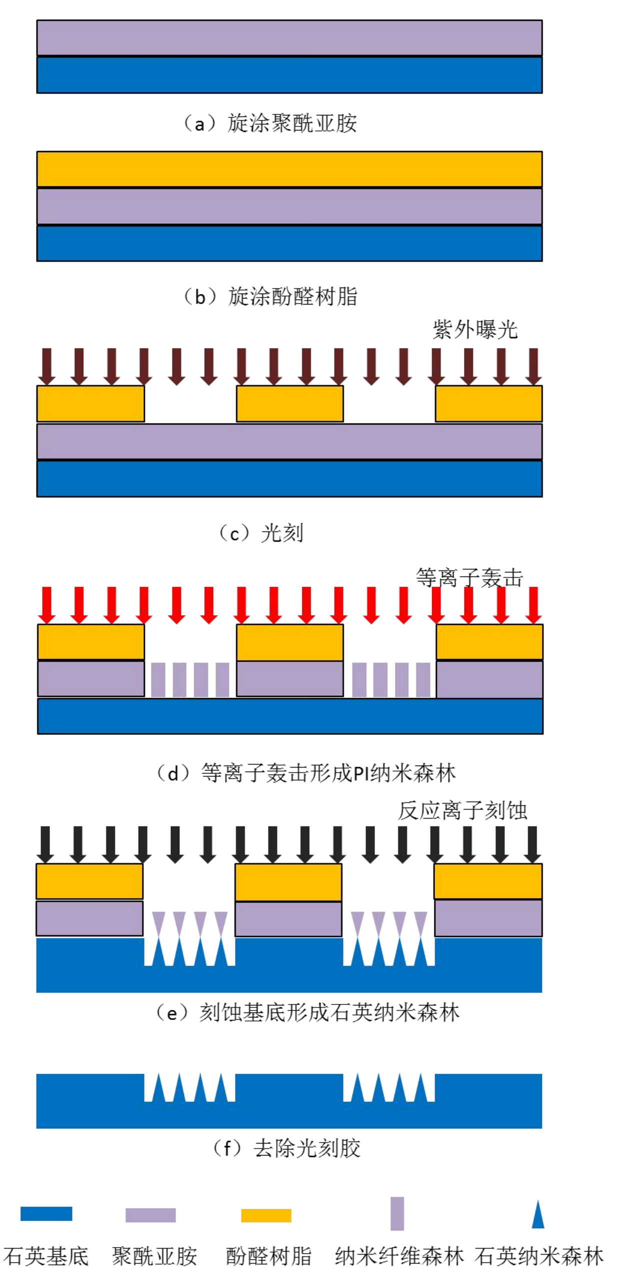


图 2 纳米森林基片制备工艺流程示意图

Fig.2 Fabrication process of nano-forest structures

1.2.3 纳米森林结构的表征方法

利用 Quanta400FEG 热场发射环境扫描电子显微镜观察纳米森林结构，测量其高度、宽度、密度和比表面积。利用紫外可见光分光光度计（Hitachi U-4100）测试其光学性能。设计宽度为 1mm 长度为 40mm 的流道，倾斜 45° 放置以 PBS 溶液的流速表征其驱动力。

1.2.4 芯片的表面修饰与荧光测试方法

将石英基底纳米森林结构放入 H_2SO_4:H_2O_2 比例为 2: 1 的溶液中清洗 1 小时，然后置于去离子水中超声 5 分钟彻底清洗芯片。将清洗好的芯片浸入 3-氨基丙基-三甲氧基硅氧烷（APTES）溶液（为含有体积比 2% APTES 的丙酮溶液）中 20 分钟，分别用丙酮、乙醇、去离子水清洗后氮气吹干。然后将氨基化的芯片浸入戊二醛溶液中（为含有体积比 5%戊二醛的 PBS 溶液，pH 值为 7.4）中 2 小时，PBS 溶液、去离子水分别清洗后氮气吹干。将 0.5ul 的兔抗（1mg/mL）分别滴加在纳米森林结构和石英平面上，并置于潮湿培养皿中 4℃孵育过夜。取出芯片用含有 1% Tween-20 的 PBS 溶液彻底清洗后氮气吹干，再置于含有 3%牛血清白蛋白的 PBS 溶液中 37℃温育 1 小时封闭芯片。取出芯片滴加 0.5ml 的 AbFluor 680 标记羊抗兔抗体（1mg/mL ，500 倍稀释），室温避光孵育 15min，取出后用 1% Tween-20 的 PBS 溶液彻底清洗后氮气吹干，Odyssey 红外荧光成像系统读取结果。

1.2.5 蓖麻毒素检测

基片的处理同 1.2.4 方法所述，使用 Biodot AD1510 生物芯片点样系统将蓖麻毒素抗体喷点于检测线上，质控线上喷点山羊抗兔 IgG。按 LinKine AbFluor 680 试剂盒提供的方法进行二抗的标记，并固化在玻纤膜上。按顺序组装好微流控芯片后，分别滴加 100uL 不同浓度的蓖麻毒素溶液，室温反应 15min，Odyssey 红外荧光成像系统读取结果。

2 结果

2.1 微流控芯片的组装

将样品垫和固化有荧光标记抗体的玻纤膜剪切成如图 3 所示形状后粘贴入芯片内凹加样区，在检测区与质控区分别包被相应抗体，纳米森林基片另一端铺 NC 膜，最后用吸水材料粘贴或卡于另一端，形成微流控检测芯片。

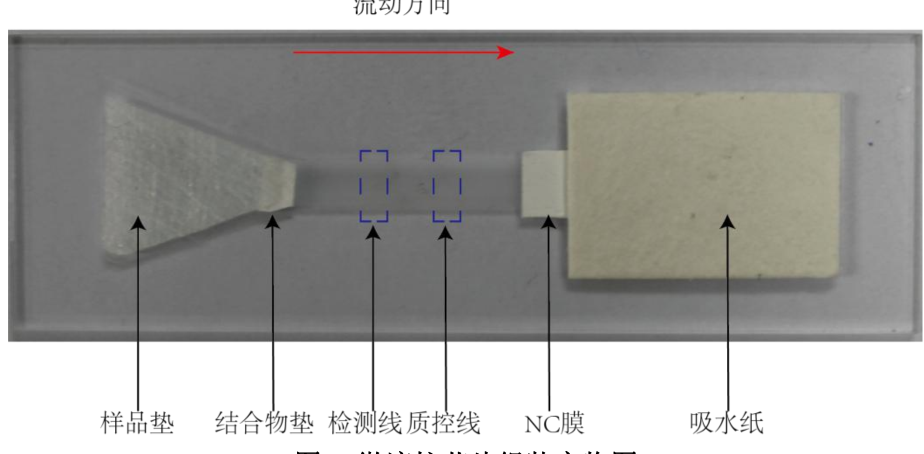


图 3 微流控芯片组装实物图

Fig.3 The microfluidic chip

2.2 纳米森林结构的表征

2.2.1 扫描电子显微镜

纳米森林结构扫描电子显微镜（SEM）结果如图 4 所示。氧等离子体和氩等离子体轰击后在石英衬底上形成的纳米纤维森林结构，单个纳米纤维直立于衬底上，直径约 50~100nm，高度约 1.8um，密度约为 20 个/μm2，如图 4（a）所示。以纳米纤维森林结构为掩模，RIE 刻蚀后会形成纳米纤维-石英纳米森林的哑铃状结构，上层纳米纤维将要倒伏

时即为刻蚀终点，如图 4（b）所示。去胶后即可得到分布均匀的石英纳米森林结构，锥底直径约 200~300nm，高度约 1.0um，密度约为 10 个/μm^2，估算表面积比底面积大于 5：1，如图 4（c）所示。

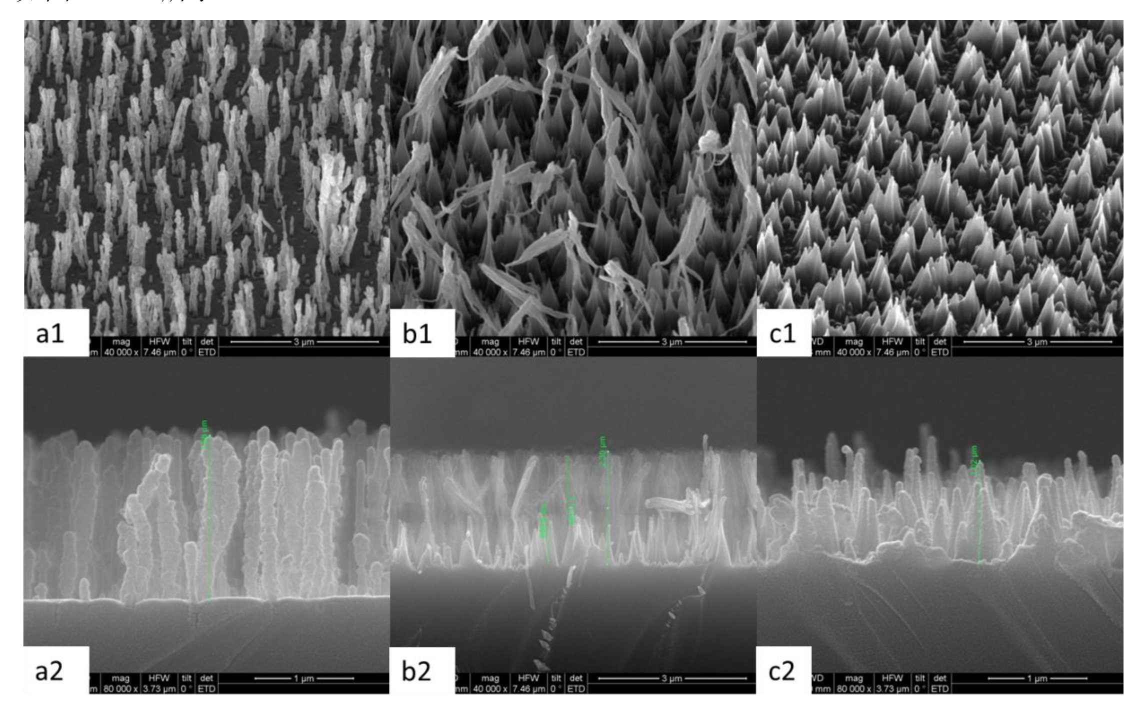


图 4 不同阶段纳米森林结构的 SEM 照片

Fig. 4 SEM photos of nano-forest structure at different stages

（a）PI nano-forest （b）PI- Quartz nano-forest （c）Quartz nano-forest

（1）view of 45° （2）view of 90°

干法去胶利用 March 去胶机作用 1.5h（O_2 流量 200sccm，功率 400W，压强 80mTorr）后，可见大量纳米纤维残留。湿法腐蚀中，49%的 KOH 室温浸泡 10min，可纳米纤维全部去除，无残留；H_2SO_4 和 H_2O_2 溶液（H_2SO_4：H_2O_2=2:1）室温浸泡 10min，SEM 可见部分纳米纤维残留；BOE（7:1）溶液漂洗 10s 后，纳米纤维全部去除，但石英纳米森林的结构被腐蚀，图形的保真度下降，如图 5 所示。

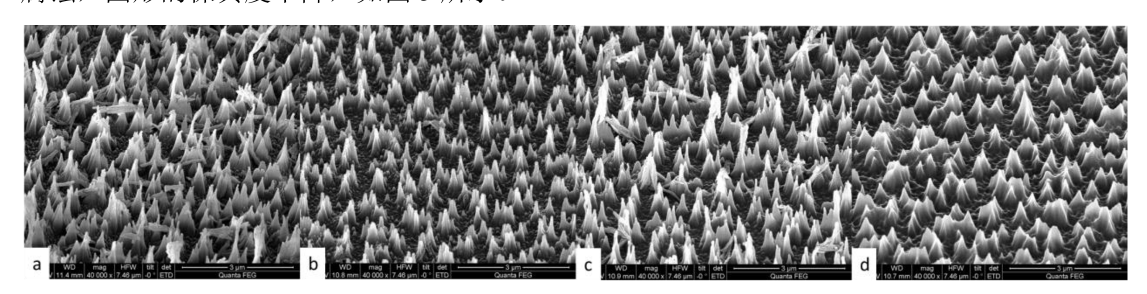


图 5 不同去胶方法的纳米森林结构 SEM 照片

Fig. 5 SEM photos of nano-forest structure with different etching methods

（a）Oxygen plasma bombardment （b）Wet etching of KOH （c）Wet etching of H_2SO_4 and H_2O_2

（d）Wet etching of BOE

通过调节聚酰亚胺（PI）涂层的厚度、氧等离子体和氩等离子体的轰击参数、RIE 刻蚀时间，可获得形状不同的纳米森林结构。在实验过程中，仅改变 PI 的厚度和等离子体轰击时间，通过对比发现图 6（c）和图 6（h）的纳米森林结构的密度、均一性最好，表面积比底面积比值可达 5:1 以上。

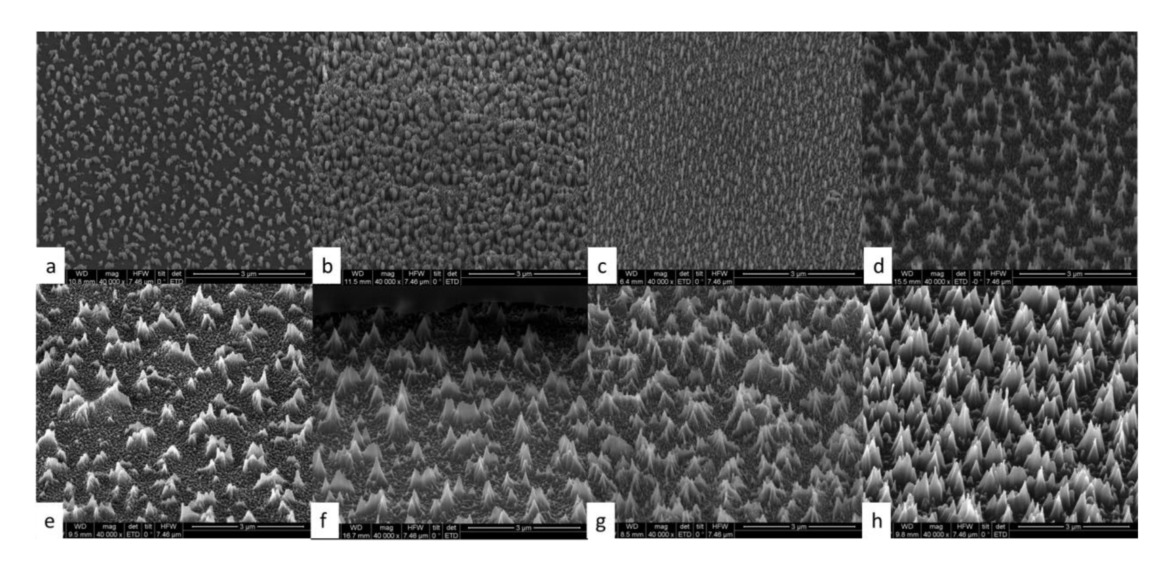


图 6 不同参数下制备的纳米森林结构

Fig. 6 SEM photos of nano-forest structure in different parameters

Glue thickness 2.5um：（a）Oxygen plasma 10min,Argon plasma 10min （b）Oxygen plasma 10min,Argon plasma 20min （c）Oxygen plasma 20min,Argon plasma 20min （d）Oxygen plasma 20min,Argon plasma 40min ； Glue thickness 5um：（e）Oxygen plasma 10min,Argon plasma 10min （f）Oxygen plasma 10min,Argon plasma 20min （g）Oxygen plasma 20min,Argon plasma 20min （h）Oxygen plasma 20min,Argon plasma 40min

2.2.2 驱动力测试

以不同参数下制备的纳米森林结构做流道，PBS 测流速发现，不同的结构毛细驱动效果不同，结果分为两种：可以流动与不流动，可以流动的结构流速都较快。考虑到纳米森林结构的高度、密度和均一性，选择图 6（h）中纳米森林结构做为芯片的流道，其驱动效果如图 7 所示，PBS 可在 8s 内从流道一端流向另一端，流速约为 5mm/s。

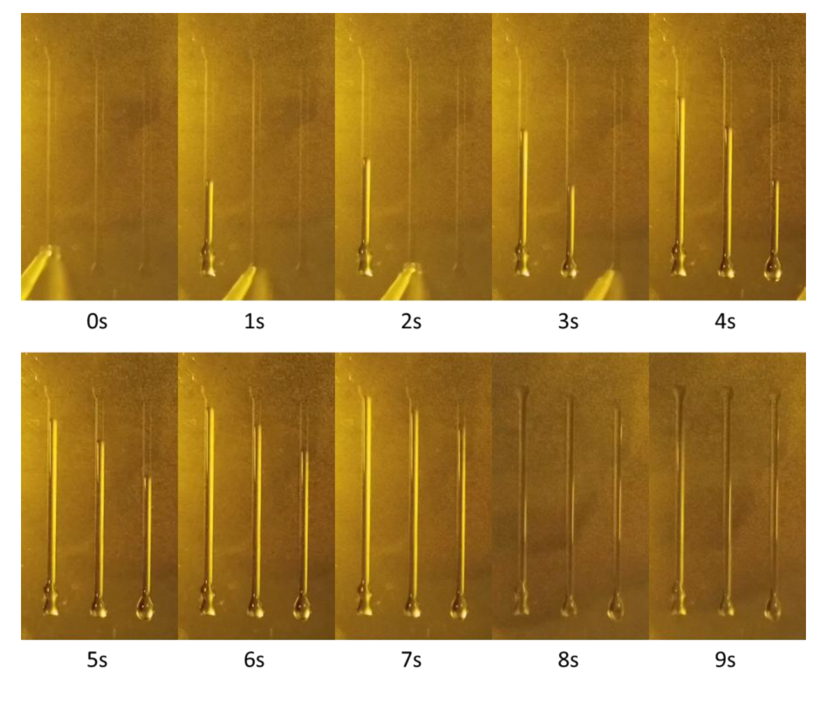


图 7 流道驱动效果测试

Fig. 7 Self-driven test

2.2.3 光学特性

以石英玻璃衬底刻蚀制作的纳米森林结构具有良好的透光性能，其在波长为 680nm 的透光率为 89.5%。其良好的透光性能使得激发光或发射光的损失较小，有利于检测器捕获更多的信号，以提高检测的灵敏度。

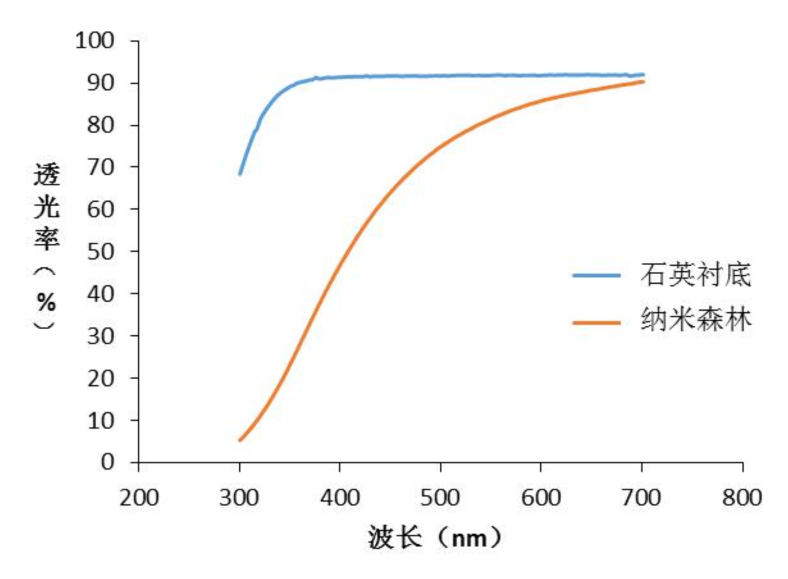


图 8 纳米森林结构与石英玻璃可见光透光率测试结果

Fig. 8 Visible-light transmittance of nano-forest structure and quartz glass

2.2.4 荧光增敏特性

在相同的表面处理方案下，平面的石英结构存在有表面修饰持续效果短，饱和荧光显色强度不高等缺点。而石英纳米森林结构具有的超大比表面积在饱和荧光显色结果中可以形成非常明显的对比，具有较好的增敏效应。因此，其在光学检测方面具有良好的应用前景。

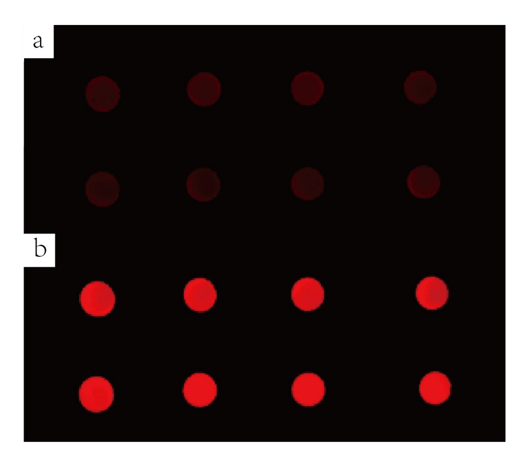


图 9 饱和荧光显色

Fig. 9 Saturated fluorescence of nano-forest structure and quartz glass

（a）Quartz glass （b）nano-forest structure

2.2.5 蓖麻毒素检测结果

纳米森林的超大表面积为捕获抗体提供了更多的结合位点，从而可以结合更多的抗原，达到提高灵敏度的目的。实验中，蓖麻毒素的质量浓度分别为 10pg/ml、50pg/ml、250pg/ml、1250pg/ml、6250pg/ml，以 3%的 BSA 作为对照。由图 10 可以看出，荧光强度随蓖麻毒素的浓度增加而增强，其在 10~6250pg/ml 范围内具有较好线性关系，检测限低于 10 pg/ml。

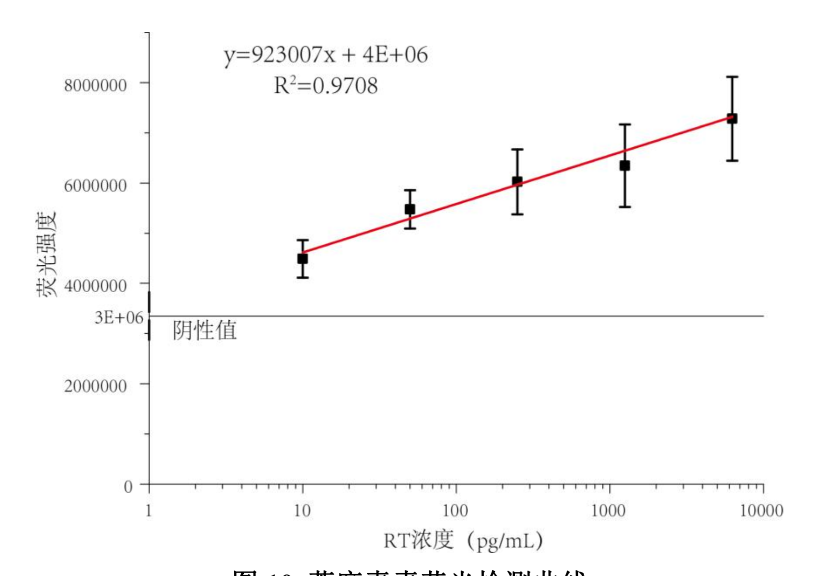


图 10 蓖麻毒素荧光检测曲线

Fig. 10 Detection curve of RT fluorescence intensity

3 讨论

纳米森林良好的光学性能降低了检测仪器的设计要求，也使荧光染料的选择范围更大。纳米森林的立体结构具有超大的表面积，相比于平面结构其成倍的提高了抗体结合的量，因而可大幅提高检测的灵敏度[10]。与免疫层析试纸条相比，其检测信号损失小，灵敏度高，在一定范围内可以实现对待检分子的定量分析[11]。与大多数需要外力驱动的微流控芯片相比，依靠其毛细驱动能力，避免了成本高体积大的复杂外力驱动设备，使得检测过程简单快捷，结合小型化的检测终端，可实现检测平台的微型化、便携化、自动化，达到简单、快速、高效的分析目的，更适合现场检测的应用[12]。

石英材料具有亲水、表面易处理、纳米纤维强度大等特性，在石英纳米森林的制作工艺中，纳米纤维森林的形状、RIE 刻蚀工艺会对石英纳米森林产生重要影响。单个纳米纤维的垂直度越好、与衬底的结合越牢固，在 RIE 刻蚀过程的掩膜作用就越好，刻蚀后的石英纤维的保真度越高。但由于在刻蚀过程中或到刻蚀终点时，纳米纤维会倒伏或簇集，造成石英纤维的簇集，纤维间分离效果不够理想。RIE 刻蚀工艺的影响主要表现在刻蚀因子和选择比上。刻蚀因子越大、选择比越大，石英纤维的保真度就越高[13]。

纳米纤维和光刻胶无法耐受芯片后续的表面处理，因此需要去除。四种不同的去胶方法中，干法去胶效果差，时间长，成本高；BOE 溶液漂洗会腐蚀石英结构，降低纳米纤维的保真度；H_2SO_4 和 H_2O_2 溶液腐蚀去胶时间长，浓 H_2SO_4 易使有机物炭化产生更难去除的杂质；KOH 室温浸泡 10min 去胶效果最好，图形的保真度高，且简单方便成本低廉。

纳米森林结构的流道流速较快且不易控制，不同的结构对驱动效果的影响复杂多变，因此在微流控芯片的实际组装过程中，将 NC 膜放置在纳米森林流道的另一端作为限速阻隔材料，以延长液体通过纳米森林流道的时间，保证抗原-抗体的充分反应。

以纳米森林结构为流道制备的微流控芯片在用于蓖麻毒素的检测时具有较高的灵敏度，其检测限低于 10 pg/ml，相比于传统的胶体金免疫层析试纸条[14,15]，其灵敏度大大提高。因此，基于纳米森林结构的微流控芯片在生物医学检测领域具有较好的应用前景。

4 结论

本研究利用 MEMS 中的常用的加工工艺制备了纳米森林流道，结合光学检测方法设计了微流控芯片，芯片构架简单、操作方便、灵敏度高，克服了免疫层析试纸条显色信号均一性差、定量检测难和其他微流控芯片结构复杂、成本高的难题，为今后的相关研究及产品研

发奠定了良好的基础。

参考文献

[1] 夏启玉，李美英，杨小亮，肖苏生，贺萍萍，郭安平．免疫层析试纸条技术及其在转基因检测中的应用．中国生物工程杂志. 2017. (02): 101-110.

Xia Q Y, Li M Y,Yang X L et al. Immunochromatography Test Strip and Its Applications in Detection of Genetically Modified Organisms. China Biotechnology, 2017. (02): 101-110.

[2] Kulinsky L, Noroozi Z, Madou M. Present technology and future trends in point-of-care microfluidic diagnostics. Methods Mol Biol, 2013,949:3-23.

[3] Whitesides GM. The origins and the future of microfluidics. Nature, 2006,442(7101):368-373.

[4] Pandey CM, Augustine S, Kumar S, *et al.* Microfluidics Based Point-of-Care Diagnostics[J]. Biotechnol J, 2018,13(1):1700047

[5] Yu Q, Xue L, Hiblot J, *et al.* Semisynthetic sensor proteins enable metabolic assays at the point of care. Science, 2018,361(6407):1122-1126.

[6] Zarei M. Advances in point-of-care technologies for molecular diagnostics. Biosens Bioelectron, 2017,98:494-506.

[7] Mao H, Wu W, She D, *et al.* Microfluidic surface-enhanced Raman scattering sensors based on nanopillar forests realized by an oxygen-plasma-stripping-of-photoresist technique. Small, 2014,10(1):127-134.

[8] 杨宇东，毛海央，李锐锐，等．双层复合纳米森林结构的制备及其宽光谱高吸收光学特性研究．红外与毫米波学报, 2018,(02):246-250.

Yang Y D,Mao H Y ,Li R R et al. Fabrication and broadband high absorption features of double-layer hybrid nanoforests . J. Infrared Millim.Waves, 2018,(02):246-250.

[9] Mao H, Wu D, Wu W, *et al.* The fabrication of diversiform nanostructure forests based on residue nanomasks synthesized by oxygen plasma removal of photoresist. Nanotechnology, 2009,20(44):445304.

[10] Kharisov BI, Kharissova OV, García BO, *et al.* State of the art of nanoforest structures and their applications. RSC Adv, 2015,5(128):105507-105523.

[11] Yang Y, Mao H, Xiong J, *et al.* Optical Features of Nanowire Forests Prepared by A Plasma Repolymerization Technique. IEEE Trans Nanotechnol, 2018,PP(99):452-455.

[12] Zhang H, Yang Y, Li X, *et al.* Frequency-enhanced transferrin receptor antibody-labelled microfluidic chip (FETAL-Chip) enables efficient enrichment of circulating nucleated red blood cells for non-invasive prenatal diagnosis. Lab Chip, 2018,18(18):2749-2756.

[13] Wu W, Mao H, Han X, *et al.* Fabrication and characterization of SiO2/Si heterogeneous nanopillar arrays. Nanotechnology, 2016,27(30):305301.

[14] Sun J, Wang C, Shao B, *et al.* Fast on-Site Visual Detection of Active Ricin Using a Combination of Highly Efficient Dual-Recognition Affinity Magnetic Enrichment and a Specific Gold Nanoparticle Probe. Anal. Chem, 2017, 89(22):12209-12216.

[15] Wang J, Gao S, Kang L, et al. Development of colloidal gold-based immunochromatographic assay for the rapid detection of ricin toxin in food samples. Food and Agricultural Immunology,2017, 22(2):185-193.